

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NAM CẦN THƠ
KHOA KỸ THUẬT - CÔNG NGHỆ



NGUYỄN CHÂU HOÀNG NAM

**NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN
KHẢ NĂNG SINH ENZYME PECTIN
METHYLESTERASE TỪ ASPERGILLUS NIGER**

KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC

Ngành: Công nghệ thực phẩm

Mã số ngành: 7540101

Cần Thơ - 05/2022

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NAM CẦN THƠ
KHOA KỸ THUẬT - CÔNG NGHỆ



NGUYỄN CHÂU HOÀNG NAM
MSSV: 1810702

NGHIÊN CỨU CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN
KHẢ NĂNG SINH ENZYME PECTIN
METHYLESTERASE TỪ ASPERGILLUS NIGER

KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP ĐẠI HỌC

Ngành: Công nghệ thực phẩm

Mã số ngành: 7540101

Cần Thơ - 05/2022

LỜI CẢM ƠN

Đề tài “Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng sinh enzyme Pectin methylesterase từ *Aspergillus niger*” là nội dung mà em đã nghiên cứu và làm luận văn tốt nghiệp sau thời gian theo học tại Khoa Kỹ thuật - Công nghệ, Trường Đại học Nam Cần Thơ. Trong quá trình nghiên cứu và hoàn thiện luận văn, em đã nhận được nhiều sự quan tâm, giúp đỡ từ quý thầy cô, gia đình và bạn bè. Để có được bài luận văn thành công nhất, em xin gửi lời cảm ơn chân thành đến với:

Ban giám hiệu Trường Đại học Nam Cần Thơ đã tạo mọi điều kiện cũng như cơ sở vật chất, phòng thí nghiệm, thiết bị, để em có thể hoàn thành khóa luận tốt nghiệp lần này.

Giảng viên hướng dẫn của em ThS. Trần Duy Khang là người thầy đầy tâm huyết và nhiệt huyết với nghề, đã tận tâm hướng dẫn, giúp đỡ em trong suốt quá trình nghiên cứu và thực hiện đề tài. Thầy đã có những trao đổi và góp ý để em có thể hoàn thành tốt đề tài nghiên cứu.

Em cũng xin trân trọng cảm ơn gia đình, bạn bè và các anh chị những người đã luôn động viên và tạo điều kiện tốt nhất cho em có thể nỗ lực hoàn thành tốt bài nghiên cứu.

Tuy nhiên, với kiến thức chuyên môn vẫn còn nhiều hạn chế cùng với việc bản thân chưa có nhiều kinh nghiệm nên khóa luận của em vẫn còn nhiều thiếu sót. Kính mong nhận được sự góp ý và chỉ bảo của quý thầy cô và anh chị.

Cuối lời, em xin kính chúc quý thầy cô và các anh chị dồi dào sức khỏe, thành công và luôn vững bước trên con đường đi đăt chúng em để trưởng thành.

Em xin chân thành cảm ơn!

Cần Thơ, ngày 01 tháng 05 năm 2022

Người thực hiện

Nguyễn Châu Hoàng Nam

TRANG CAM KẾT

Tôi xin cam kết khóa luận này được hoàn thành dựa trên các kết quả nghiên cứu của tôi và các kết quả nghiên cứu này chưa được dùng cho bất cứ khóa luận cùng cấp nào khác.

Cần Thơ, ngày 01 tháng 05 năm 2022

Người thực hiện

Nguyễn Châu Hoàng Nam

MỤC LỤC

| | |
|---|------------|
| LỜI CẢM ƠN | i |
| TRANG CAM KẾT | ii |
| DANH SÁCH BẢNG | v |
| DANH SÁCH HÌNH | vi |
| DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT | vii |
| CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN CHUNG | 1 |
| 1.1 ĐẶT VẤN ĐỀ | 1 |
| 1.2 MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU | 2 |
| 1.2.1 Mục tiêu chung | 2 |
| 1.2.2 Mục tiêu cụ thể | 2 |
| CHƯƠNG 2: SƠ LƯỢC TÀI LIỆU | 3 |
| 2.1 HỆ ENZYME PECTINASE | 3 |
| 2.1.1 Giới thiệu chung | 3 |
| 2.1.2 Polygalacturonase (PG) | 3 |
| 2.1.3 Lyase | 3 |
| 2.1.4 Pectin methyl- và acetyl esterase | 4 |
| 2.2 PECTIN METHYLESTERASE (PME) | 4 |
| 2.2.1 Giới thiệu chung | 4 |
| 2.2.2 Cấu trúc của PME | 4 |
| 2.2.3 Đặc điểm cơ bản của PME | 6 |
| 2.2.4 Kiểu phản ứng | 7 |
| 2.2.5 Nguồn gốc tổng hợp PME | 8 |
| 2.2.6 Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính xúc tác của enzyme PME | 10 |
| 2.3 ĐỘNG HỌC ENZYME | 17 |
| 2.3.1 Khái niệm enzyme và cấu tạo hóa học | 17 |
| 2.3.2 Giới thiệu về phản ứng enzyme | 18 |
| 2.3.3 Động học phản ứng enzyme | 18 |
| 2.3.4 Động học sự vô hoạt enzyme | 19 |
| 2.4 NẤM MỐC <i>ASPERGILLUS NIGER</i> | 20 |
| 2.4.1 Lược khảo chung về nấm mốc | 20 |
| 2.4.2 Nấm mốc <i>Aspergillus niger</i> | 21 |
| 2.4.3 Định danh <i>Aspergillus niger</i> | 22 |
| 2.4.4 Thu nhận enzyme PME từ <i>A.niger</i> | 22 |
| 2.4.5 Vai trò của cơ chất trong quá trình sinh tổng hợp enzyme PME | 25 |
| 2.4.6 Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến hiệu quả sinh tổng hợp PME | 26 |
| 2.4.7 Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước | 27 |
| CHƯƠNG 3: PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 29 |
| 3.1 PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU | 29 |
| 3.1.1 Địa điểm và thời gian nghiên cứu | 29 |
| 3.1.2 Đối tượng nghiên cứu: | 29 |
| 3.1.3 Thiết bị và hóa chất | 29 |
| 3.2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU | 30 |
| 3.2.1 Môi trường nuôi cấy | 30 |
| 3.2.2 Các phương pháp phân tích và đo đạc chỉ tiêu hóa lý | 32 |
| 3.2.3 Phương pháp xử lý số liệu | 33 |

| | |
|---|-----------|
| 3.3 PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH | 33 |
| 3.3.1 Phương pháp xác định độ ẩm | 33 |
| 3.3.2 Phương pháp phân tích pectin | 34 |
| 3.3.3 Phương pháp trích ly PME | 35 |
| 3.3.4 Phương pháp xác định hoạt tính của enzyme PME | 35 |
| 3.3.5 Cách chuẩn bị dung dịch đệm citrate/phosphate (pH 2.2 - 8.0) | 35 |
| 3.4 PHƯƠNG PHÁP BỐ TRÍ THÍ NGHIỆM | 37 |
| 3.4.1 Thí nghiệm 1: Ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn cơ chất vỏ đu đủ : vỏ bưởi và tỉ lệ pha loãng cơ chất đến khả năng sinh PME từ <i>A.niger</i> | 38 |
| 3.4.2 Thí nghiệm 2: Ảnh hưởng của việc điều chỉnh pH đến khả năng trích ly PME từ <i>A.niger</i> | 39 |
| 3.4.3 Thí nghiệm 3: Ảnh hưởng nhiệt độ và thời gian ủ đến khả năng sinh tổng hợp PME từ <i>A.niger</i> | 40 |
| CHƯƠNG 4: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN | 41 |
| 4.1 XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM VÀ HÀM LƯỢNG PECTIN TRONG CƠ CHẤT LÊN MEN | 41 |
| 4.2 ẢNH HƯỞNG TỈ LỆ PHỐI TRỘN CƠ CHẤT VỎ ĐU ĐỦ : VỎ BƯỞI VỚI TỶ LỆ PHA LOÃNG ĐẾN KHẢ NĂNG SINH PME TỪ <i>A.NIGER</i> | 41 |
| 4.3 ẢNH HƯỞNG CỦA VIỆC ĐIỀU KHIỂN pH ĐẾN KHẢ NĂNG TRÍCH LY PME TỪ <i>A.NIGER</i> | 44 |
| 4.4 ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN LÊN MEN ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP PME TỪ <i>A.NIGER</i> | 45 |
| CHƯƠNG 5 | 49 |
| 5.1 KẾT LUẬN | 49 |
| 5.2 KIẾN NGHỊ | 49 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | 50 |
| PHỤ LỤC | 54 |

DANH SÁCH BẢNG

| | |
|---|----|
| Bảng 1. Đặc tính sinh hóa của một số PME tinh khiết từ thực vật | 9 |
| Bảng 2. Hiệu quả xử lý nước táo và vải bằng chế phẩm enzyme pectinase | 14 |
| Bảng 3. Thông số động học Km của một số enzyme | 19 |
| Bảng 4. Kết quả trung bình sau khi đo màu sắc của 3 mẫu đu đủ | 30 |
| Bảng 5. Chuẩn bị dung dịch đệm citrate - phosphate (pH 2.2 - 8.0). | 36 |
| Bảng 6. Hàm lượng ẩm và pectin trong cơ chất lên men | 41 |
| Bảng 7. Sự ảnh hưởng của tỷ lệ cơ chất với mức độ pha loãng đến khả năng sinh enzyme PME có hoạt tính cao. | 42 |
| Bảng 8. Ảnh hưởng của pH môi trường lên men đến hoạt tính PME | 45 |
| Bảng 9. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hoạt tính PME | 47 |

DANH SÁCH HÌNH

| | |
|---|----|
| Hình 1. Phản ứng thủy phân liên kết methyl ester của pectin với xúc tác PME. . | 4 |
| Hình 2. Cấu trúc của PME từ cà rốt. | 5 |
| Hình 3. Cấu trúc bậc II của PME từ cà chua, cà rốt và E.chrysanthemi. | 6 |
| Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ phản ứng của enzyme. | 11 |
| Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất đến hoạt tính của enzyme | 12 |
| Hình 6. Ảnh hưởng của pH đến hoạt động của enzyme. | 12 |
| Hình 7. Tác dụng của PME trong quá trình làm trong nước quả. | 15 |
| Hình 8. Pectate calcium. | 16 |
| Hình 9. Aspergillus niger. | 21 |
| Hình 10. Mẫu nguyên liệu. | 30 |
| Hình 11. Aspergillus niger | 32 |
| Hình 12. Sơ đồ bố trí thí nghiệm tổng quát. | 38 |
| Hình 13. Khả năng sinh tổng hợp PME từ hỗn hợp vỏ đu đủ và vỏ bưởi ở các mức độ pha loãng khác nhau. | 43 |
| Hình 14 . Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian lên men đến hoạt tính PME. | 46 |
| Hình 15. Enzyme PME dạng thô được thu trong dung dịch đệm citrate phosphate. | 48 |

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

A. niger: *Aspergillus niger*

ES: Enzyme - substrat

EDTA: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid

FDA: Food and Drug Administration

GRAS: Generally Recognized As Safe

HPAEC: High Performance Anion Exchange Chromatography

MALDI-MS: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass spectrometry

PME: Pectin Methylesterase

PG: Polygalacturonase

PL: Pectate Lyase

SSF: Solid Surface Fermentation

SmF: Submerged Fermentation